Beiträge

zur

Kenntniss des Wachsthums und der Regeneration des Knorpels

nach Beobachtungen am Kaninchen- und Mäuseohr.

Inaugural-Dissertation

der

medicinischen Facultät der Kaiser Wilhelms-Universität Strassburg

zur

Erlangung der Doctorwürde

vorgelegt von

H. Sieveking
approb. Arzt aus Hamburg.

Naumburg a/S.
G. Pätz'sche Buchdr. (Lippert & Co.).
1891.

Gedruckt mit Genehmigung der medicinischen Facultät der Universität Strassburg.

Referent: **Prof. Dr. Schwalbe.**

Beiträge zur Kenntniss des Wachsthums und der Regeneration des Knorpels nach Beobachtungen am Kaninchen- und Mäuseohr

von

H. Sieveking,
approb. Arzt aus Hamburg.

Hierzu Tafel VIII u. IX.

Erst in neuerer Zeit hat man angefangen, sich mit den Wachsthumsverhältnissen des Knorpels näher zu beschäftigen. Die ersten Mittheilungen darüber betreffen makroskopische Untersuchungen am postembryonalen Netzknorpel. OLLIER, als der erste, kam 1867 zu dem Ergebniss, dass das Wachsthum ein interstitielles sei. Nach ihm hat dann Schwalbe 1878 in der Jenaischen Gesellschaft für Medicin und Naturwissenschaften diesen Gegenstand wieder in Anregung gebracht. Er hebt auf Grund seiner Beobachtungen das appositionelle Wachsthum besonders hervor und setzt sich so in einen gewissen Widerspruch zu OLLIER. Seither haben nun zahlreiche besonders mikroskopische Untersuchungen uns über das Knorpelwachsthum weitere werthvolle Aufschlüsse ertheilt, ohne eine befriedigende Entscheidung oder Vermittlung zwischen den sich entgegenstehenden Ansichten herbeigeführt zu haben. Weitere Forschungen können nur dazu beitragen, die bestehenden Widersprüche zu klären, und wir hoffen, dass auch die Mittheilung unserer Untersuchungen, welche embryonalen und postembryonalen Netzknorpel umfassen und dabei besonders die nach den neueren Methoden gefärbten Kerntheilungsfiguren berücksichtigen, diesem Zwecke dienen können.

Werfen wir zunächst einen kurzen Rückblick auf die bisher über unsern Gegenstand erschienenen Veröffentlichungen. Die erste Angabe finden wir, wie schon bemerkt, in dem 1867 herausgegebenen Werke OLLIERS: Traité expérimental et clinique de la régénération des os et

de la production artificielle du tissu osseux. OLLIER legte in die Ohren junger Kaninchen je zwei dünne Metalldrähte ein und beobachtete, dass dieselben allmählich mehr und mehr auseinanderwichen. Er schliesst hieraus: „l'accroissement est donc interstitiel. Il en est de même pour tous les cartilages; l'observation anatomique démonstre, du reste, qu'il ne peut pas en être autrement; la rapidité de la prolifération des cellules cartilagineuses nécessite une augmentation interstitielle du tissu."

SCHWALBE verfolgte einen anderen Weg der Untersuchung. Er benutzte, wie aus dem „Sitzungsbericht der Jenaischen Zeitschrift" von 1878 hervorgeht, ältere Kaninchen. Einmal nun wurde mit einem Locheisen eine kreisrunde Marke von 4 mm Durchmesser in der Mitte eines Ohres angebracht und ihre Entfernung von Spitze, Hinterrand und Basis des Ohres bestimmt. Dieselbe nahm langsam und gleichmässig zu. Das andere Mal wurden zwei solcher Marken neben einander, mehr dem Ohrrande zu, angebracht, und es zeigte sich jetzt, dass der Abstand beider, von Mitte zu Mitte gemessen, gleichblieb. Hiernach konnte man also nur an ein appositionelles Wachsthum am Rande des Ohres denken. Eine Bestätigung hierfür fand SCHWALBE auch in dem mikroskopischen Befunde. Hier fällt sowohl an Quer- als an Flächenschnitten der allmähliche Uebergang des Perichondriums in den Knorpel auf; eine Grenze zwischen beiden ist nicht zu bestimmen. Ohne Theilungsformen zu zeigen, nehmen die Knorpelzellen in ihrer Dicke zu. Endlich fand man an Querschnitten bei Zählungen in der Breite der Knorpelleiste 6 Zellen in der vierten, 10 in der zwanzigsten Woche; lauter Einzelheiten, welche für das appositionelle Wachsthum sprechen.

Wir haben absichtlich betont, dass OLLIER junge, SCHWALBE ältere Thiere zu seinen Versuchen benutzte und werden unten zeigen, wie sich hieraus das verschiedene Ergebniss, zu dem die beiden Forscher gelangt sind, erklärt.

Bisher war nur vom Netzknorpel die Rede. Andere Autoren haben ihre — hauptsächlich mikroskopischen — Untersuchungen zum Theil auch auf den hyalinen Knorpel ausgedehnt, und es ist begreiflich, dass sich hierbei neben vielen Verschiedenheiten gar manche lehrreiche Vergleichungspunkte darbieten.

So sagt KASSOWITZ in seiner „Normalen Ossification" vom hyalinen Knorpel: „Beim Wachsthum erfolgt einerseits eine Zunahme der Grundsubstanz zwischen den Zellen und andrerseits auch eine Vermehrung der Zellen. Erstere entsteht unter allen Bedingungen durch Neubildung von Fibrillen in einem mucinösen Grundgewebe." Das interstitielle Wachsthum wird also als celluläres und intercelluläres unterschieden und „erfolgt, so lange kein Theil des Knorpels verkalkt ist, wohl ziemlich gleichmässig." Appositionelles Wachsthum

wird nur für die frühembryonalen Stadien zugegeben, wo sämmtliche Knorpelanlagen durch Umwandlung des Bildungsgewebes entstehen. Sobald einmal die Anlage der Knorpel des präformirten Skelettes vollendet ist, verdanken diese ihre Grössenzunahme ausschliesslich inneren Wachsthumsvorgängen. KASSOWITZ kommt dann auf den Unterschied zwischen Netz- und hyalinem Knorpel zu sprechen und betont: „Während man bei letzerem die Theilungserscheinungen der Knorpelzellen in der ganzen Dicke des Knorpels ziemlich gleichmässig verbreitet sieht, findet eine Zelltheilung innerhalb des von elastischen Netzen durchzogenen Theils des elastischen Knorpels überhaupt gar nicht statt, sondern ausschliesslich in der schmalen, nicht elastischen, sondern hyalinen Randpartie, in welcher offenbar auch nahezu das gesammte Wachsthum des ganzen Knorpels vor sich geht. In diesem Sinne kann man also für die elastischen Knorpel allerdings von einem appositionellen Wachsthum sprechen, indem der wirklich elastische Theil offenbar auf Kosten des durch Zellenvermehrung und insbesondere auch durch Zellenvergrösserung expansiv wachsenden hyalinen Randtheils an Ausdehnung gewinnt."

Neuerdings nimmt GRADENIGO (Ueber die embryonale Anlage des Mittelohrs 1888) im embryonalen Leben sowohl interstitielles, als auch appositionelles Wachsthum an. Er führt die Ansichten einiger anderer Forscher an, die man mir kurz zu berühren gestatten möge. Nach Bruch (Untersuchung über die Entwicklung der Gewebe bei den warmblütigen Thieren, 1863—1867) soll sich durch Intussusception ausschliesslich die Intercellularsubstanz vermehren; Zellvermehrung kommt nur durch Apposition zu Stande. In späteren Stadien nimmt das appositionelle Wachsthum ab, der echte Knorpel dehnt sich aus, die Grenzschicht wird schmäler, ihre Zellen länglich, später erscheint specielle, faserige Beschaffenheit. BERNAYS (Morphologisches Jahrbuch, Band IV, S. 403) sieht gerade die Grenzschicht als die Wucherungszone an, auf deren Kosten der Knorpel im embryonalen Leben wachse. SCHULIN (Archiv für Anatomie und physiologische Anatomie) behauptet dagegen, diese Schicht sei das Endprodukt des appositionellen Knorpelwachsthums, sie finde sich auch im fertigen Knochengewebe. Zusammenfassend erklärt sich GRADENIGO endlich dahin, dass nur in den ersten embryonalen Stadien der Grenzschicht die Bedeutung einer Wucherungszone zukomme, welche zu dieser Zeit als Rest der vorknorpligen, fortwährend appositionell wachsenden Anlage angesehen werden könne. „In diesen Stadien ist in der That ein allmählicher Uebergang zwischen den Knorpeln und den Bindegewebszellen zu bemerken, in einem späteren Stadium, wenn die Knorpelabschnitte schon annäherungsweise die Form, welche beim Erwachsenen anzutreffen ist, darbieten, verwandelt sich die chondrogene Schicht (oben Grenzschicht genannt) zu einer dünnen faserigen Schicht, deutlich vom Knorpel, als

auch vom anliegenden Bindegewebe gesondert. In diesem Stadium besitzt sie kein chondrogenes Vermögen."

Vor Kurzem veröffentlichte DEKHUYZEN (Het hyaline kraakbeen, zijn beteekenis en zijn groei 1889) das Ergebniss seiner Untersuchungen am Froschschenkel; er findet, dass das expansive Wachsthum der knorpeligen Zwischensubstanz zum Theil auf Druck der Zellen, zum Theil auf interstitielles Wachsthum der Zwischensubstanz zurückzuführen ist; letzteres werde bewiesen durch das radiäre Divergiren der Knorpelfibrillen von den Knorpelzellen aus. Die oberflächliche Schicht des Gelenkknorpels habe appositionelles Wachsthum, indem einzelne Zellen in schräger Richtung sich in die tieferen Schichten hineinschöben.

Endlich hat SOLGER (Ueber Knorpelwachsthum Fortschritte der Medicin No. 22 1889) das Kopfskelet des Hechtes untersucht und findet dabei folgende Typen des Knorpelwachsthums: Erstens einfache, vollkommene Metaplasie des Perichondriums, wobei „die fibrilläre Zwischensubstanz chondrogene Umwandlung erfährt, während die Bindegewebszellen zu Knorpelzellen werden." Zweitens unvollkommene Metaplasie, wobei sich an der Grenze zwischen knorpeliger Grundlage und Deckknochen eine Lage ossificirenden Blastems befindet; diesem Typus ist der dritte ähnlich, nur sind hier Osteo- und Chondroblasten nicht durch eine ossificirende Blastemlage von einander getrennt, sondern unmittelbar neben einander gelagert. Viertens intrakartilaginäres Wachsthum, wo Zellprotoplasma die Grundsubstanz direct aus sich hervorgehen lässt.

Wir haben diese Angaben hier nur zusammengestellt, ohne auf dieselben näher einzugehen, um ein Bild von dem jetzigen Stande dieser Frage zu geben. Wir werden im Laufe unserer Ausführungen öfter Gelegenheit nehmen, auf dieselben zurückzukommen und hoffen zeigen zu können, dass sich gar manche Widersprüche ungezwungen aufheben lassen.

Wir berichten nun zunächst über unsere makroskopischen Untersuchungen. Dieselben wurden zuerst nach der schon oben erwähnten, von SCHWALBE angegebenen Methode ausgeführt. Thiere von verschiedenem Alter wurden an den Ohren mit kreisrunden Lochmarken von 4 mm Durchmesser versehen. In der Regel wurden zwei Marken in der Längsachse des Ohres über einander angebracht, möglichst in seiner Mitte. Die in regelmässigen Zeiträumen nachgemessenen Entfernungen zwischen den beiden Lochmarken einer- und zwischen der oberen und dem Rande der Ohrspitze andrerseits waren zwar anfangs von der Mitte der Löcher aus mit dem Zirkel genau zu bestimmen. 14 Tage lang blieb bei allen durchschnittlich die Kreisform der Lochmarken unverändert. Von diesem Zeitpunkt an jedoch veränderte sich die Form derartig, dass

eine Messung von Rand zu Rand allein möglich blieb und den vorher festgestellten Zahlen der Radius hinzugerechnet werden musste. Die Lochmarken beginnen nämlich zwei Wochen nach der Operation zuzuwachsen, und zwar geschieht dies durchaus nicht gleichmässig, am allerwenigsten bei den dem Ohrrande näher gelegenen Marken. Die untere der beiden von uns angebrachten Lochmarken, fast in der Mitte des Ohres gelegen, schloss sich gewöhnlich verhältnissmässig rasch, war 5 Wochen nach der Operation nur noch für eine Nadel durchgängig und nach weiteren 7 Wochen vollständig verschlossen; die obere aber, der Spitze nahe gelegen, und ebenso in den unteren Ohrtheilen nahe dem Rande angebrachte Lochmarken zeigten stets ein eigenthümliches Verhalten. Bei älteren Thieren ziehen sie sich in die Länge und bleiben als länglicher Schlitz noch geöffnet, wenn sich die unteren schon geschlossen haben. Bei jüngeren Thieren verengern sie sich aber gar nicht, erweitern sich vielmehr und nehmen eine in der Achse des Ohres längsovale Form an. Von der sechsten Woche ab rücken dann die Seitenränder aneinander, es bildet sich ein länglicher Schlitz, und erst im vierten Monat oder gar noch später schliesst sich das Loch. Eine Lochmarke war noch im vierten Monat grösser, als sie ursprünglich angelegt wurde. Zum Vergleich erwähnen wir, dass sich ein winziges, mit einer Nadel am 5. Lebenstage nahe der Ohrspitze eines Kaninchens angebrachtes Loch vom 30. Lebenstage des Thieres an zu weiten begann, nach zwei Wochen 2 mm im Durchmesser mass und so bis zum Ende unserer Beobachtung (72. Lebenstag) bestehen blieb. Erklären lassen sich diese Erscheinungen nur durch ein expansives Wachsthum des Knorpels, welches zu bestimmter Zeit besonders in den Randtheilen des Ohres auftritt.

Es ist hiernach erklärlich, dass die Messungen unsicher, ihr Ergebniss zweifelhaft wird. Eins jedoch erweisen sie klar, und darum theilen wir die Zahlen auch unten mit, dass nämlich im ersten Lebensmonat die Lochmarken auseinanderrücken, später immer weniger, wohingegen dann die Entfernung der oberen Marke vom Rande immer mehr wächst. Eine schnellere Vergrösserung des Abstandes der beiden Lochmarken von einander wird im 2. und 3. Lebensmonat nur durch das Zuwachsen derselben vorgetäuscht. Wir sind also zu dem Schlusse berechtigt, dass im ersten Monat das Wachsthum in allen Theilen des Ohrknorpels gleichmässig vor sich geht, dass jedoch später dieses aufhört und das Ohr sich durch Randwachsthum allein vergrössert.

Tabelle I.

Lebenstag.	Entfernung der Marken von einander.								Entfernung der oberen Marke von der Spitze.							
	Bezeichnung der einzelnen Thiere.															
	a	b	c	d	e	f	g	h	a	b	c	d	e	f	g	h
7	3	.	7	.	.	.	.	.	4	.	7	.	.	.	.	.
13	4	.	9	.	.	.	.	.	4	.	7	.	.	.	.	.
17	5	.	.	.	.	.	.	.	4	.	.	.	.	.	.	.
20	.	.	.	.	3,5	6	.	.	.	.	.	.	5,25	5	.	.
30	.	.	.	8	.	.	3,5	.	.	.	.	12	.	.	12	.
32	7	.	.	.	.	.	.	.	6	.	.	.	.	.	.	.
35	.	8	.	.	5,5	8	.	.	.	13	.	.	6,5	5	.	.
40	8	.	.	8,5	.	.	4,5	10	6	.	.	12	.	.	12	10
45	.	8	.	.	7,5	10	.	.	.	16,5	.	.	7,5	5	.	.
50	.	.	.	.	.	.	.	12,5	.	.	.	.	.	.	.	12
55	10	.	.	9	.	.	5	.	6	.	.	12	.	.	12	.
60	.	11	.	.	.	.	.	.	.	19	.	.	.	.	.	.
65	.	.	.	.	.	.	.	15,5	.	.	.	.	.	.	.	13,5
70	.	13	.	.	8	12	.	.	.	19	.	.	8	5,5	.	.
75	.	.	.	.	.	.	.	16	.	.	.	.	.	.	.	14
90	.	.	.	.	9	14	.	.	.	.	.	.	9	6	.	.
93	13	.	.	.	.	.	.	.	6	.	.	.	.	.	.	.
97	.	14	.	.	.	.	.	.	.	19	.	.	.	.	.	.
117	15	.	.	.	10	15	.	.	6	.	.	.	10	6	.	.
122	.	15	.	.	.	.	.	.	.	20	.	.	.	.	.	.
125	.	.	.	.	10	15	.	18	.	.	.	.	10	7	.	16
135	.	.	.	.	.	.	11	18	.	.	.	.	.	.	12	16
140	.	.	.	.	10	16	.	.	.	.	.	.	11	7	.	.
165	.	.	.	.	10	.	.	.	.	.	.	.	12	.	.	.

Erklärung. In der ersten Kolumne sind nach einer bestimmten Entfernung die einzelnen Tage abgetheilt und diejenigen, an denen Messungen vorgenommen wurden, noch besonders mit Zahlen bezeichnet. In allen übrigen Rubriken sind dieselben durch die durchgezogenen Horizontalen bezeichnet. Die von letzteren durchschnittenen Zahlen bezeichnen die an den bestimmten Tagen gemessenen absoluten Werthe der Entfernungen zwischen den beiden Lochmarken einer-, der oberen und der Ohrspitze andererseits in mm.

Um zu genaueren, zuverlässigeren Ergebnissen zu kommen, haben wir unsere Versuche nach der Methode OLLIERS wiederholt. Es wurden den Thieren Metalldrähte von Fadendicke in die Ohren eingelegt; die entsprechenden Entfernungen liessen sich so leicht messen, und wir fanden nun unsere obigen Angaben vollauf bestätigt. Die einzelnen Messungen ergaben folgende Zahlen:

(Siehe Tabelle II. Seite 7.)

Besser als durch diese Zahlenreihen werden die Wachsthumsverhältnisse wohl durch die in Tafel IX. beigefügte Curvenzeichnung veranschaulicht. Auf der Abscissenlinie sind die einzelnen Tage abgetheilt, der Art, dass 1 mm einem Tage entspricht, die Ordinaten geben die absoluten Maasse für die einzelnen Tage an; von den Curven bezieht sich die ausgezogene auf die Entfernung der beiden Drahtlöcher von einander, die punktirte jedoch auf den Abstand des oberen derselbe von der Ohrspitze.

Tabelle II.

Lebenstag.	Entfernung der Lochmarken in mm von einander.				der oberen v. d. Ohrspitze.			
	Bezeichnung der einzelnen Thiere.							
	a	b	c	d	a	b	c	d
5	8	6	.	.	4,5	4,5	.	.
12	8	8	.	.	8	9	.	.
16	.	.	8	10	.	.	10	6
21	15,5	12	8	12	12	11	11	6
28	20	15	9,5	14	14	14	11,5	7
35	24	17	11	15	14	15	12	7
42	24	18	.	.	14	16	.	.
45	.	.	.	15	.	.	15	9
49	25	18	.	.	15	17	.	.
52	.	.	.	17	.	.	17	10
56	27	20	.	.	16	18	.	.
59	.	.	.	18	.	.	18	11
65	30	23	.	19	18	20	19	11
80	.	.	.	19	.	.	20	11
90	.	.	.	20	.	.	20	11

Was lehren uns nun diese Zahlenreihen? Wir sehen an den Curven, dass um den 30. Lebenstag der Thiere, manchmal etwas früher, gewöhnlich etwas später, die anfangs verhältnissmässig rasch wachsenden Entfernungen der Lochmarken von einander in ein Stadium langsamerer Zunahme übergehen; letzteres findet sein Ende im dritten Lebensmonat; von da an rücken die Marken nicht weiter auseinander. In der ersten Tabelle (auf S. 6) wird, wie schon bemerkt, solches nur durch das Zuwachsen der Lochmarken vorgetäuscht. Ferner erkennt man, dass die Entfernung der oberen Lochmarke von der Ohrspitze von Anfang an langsamer zunimmt, dass solches Wachsthum jedoch gleichmässig bis über den dritten Lebensmonat hinaus anhält, ohne dass ein bestimmter Zeitpunkt als Grenze festgestellt werden könnte. Somit finden wir sowohl OLLIERS, als auch SCHWALBES Angaben bestätigt; ersterer sah ein Auseinanderweichen der Stichkanäle im ersten Lebensmonat, letzterer beobachtete, dass bei älteren Thieren die Abstände der beiden Lochmarken von einander gleichblieben, dass letztere sich aber vom Ohrrande immer weiter entfernten.

Es kommen noch weitere Thatsachen hinzu, um den oben hervorgehobenen Zeitpunkt am Anfang des zweiten Lebensmonats als besonders wichtig hervortreten zu lassen. Von da an beginnen nämlich die Lochmarken allmählich zuzuwachsen, nachdem sie vorher unverändert geblieben waren, je nachdem tritt dies Ereigniss also bei einigen früher, bei anderen später nach der Operation ein. Ja, auch die schon oben erwähnte Ausdehnung der dem Ohrrand nahe liegenden Lochmarken beginnt erst um diese Zeit sich zu entwickeln. Einmal beobachteten wir, wie ebenfalls schon früher bemerkt, sogar an einer

feinen Stichöffnung, welche für einen der Drahtringe nahe der Ohrspitze angebracht war, eine vom 30. Tage beginnende Ausweitung, die am 45. Tage eine kreisrunde Oeffnung von 2 mm Durchmesser zeigte.

Nach alledem müssen wir also annehmen, dass sich am Beginn des zweiten Lebensmonats eine durchgreifende Veränderung der Wachsthumsverhältnisse im Knorpel vollzieht. Welcher Art diese nun sei, darüber kann uns nur die mikroskopische Untersuchung Aufschluss geben.

Wir haben daraufhin das Kaninchenohr in verschiedenen embryonalen und postembryonalen Stadien, zum Vergleich auch uns gerade zu Gebote stehenden Ohrknorpel neugeborener Mäuse untersucht. Da wir auf die Kerntheilungsfiguren besonders unsere Aufmerksamkeit zu richten beabsichtigten, so wurden die Präparate durchweg mit FLEMMING'scher Lösung fixirt, in Wasser ausgewaschen und nun entweder erst mit Alaunkarmin durchgefärbt, dann gehärtet und in Paraffin eingebettet, oder gleich gehärtet und eingebettet und erst dann die Schnitte mit Alaunkarmin oder Safranin gefärbt.

Gehen wir zunächst auf die vom Kaninchenohr gewonnenen Präparate etwas näher ein. Das frühste von uns untersuchte Stadium betrifft einen Embryo von 4 cm Kopf-Reisslänge. Auf Querschnitten (s. Fig. I) erkennt man zu äusserst die deutlich ausgeprägten drei Schichten der Epidermis mit zahlreichen Mitosen im Stratum Malpighii und Andeutungen von Drüsenanlagen, weiter embryonales Bindegewebe und in dessen Mitte einen von dicht aneinanderliegenden Zellen ohne Intercellularsubstanz gebildeten Streifen, den Vorknorpel. An dem Rande desselben nehmen die sich sonst regellos durchflechtenden Bindegewebefasern mit ihren Zellen eine ihm parallele Verlaufsrichtung an und gehen ohne scharfe Grenze in ihn über. Dieser Vorknorpelstreifen reicht an seinen beiden Enden bis an die Epidermis heran (s. Fig. III), indem seine Zellen in fächerförmiger Anordnung sich denen des Stretum Malpighii anschliessen. An diesen Punkten liegen die meisten Kerntheilungsfiguren, in der Mitte des Streifens findet man nur wenige derselben, an der Grenze gegen das Bindegewebe gelegen und durchweg mit ihrer Spindelachse parallel zur Längsrichtung des Schnittes, also senkrecht auf der Längsachse des Ohres stehend. Weiter nach der Ohrbasis zu ist die Vorknorpelleiste schon schärfer abgegrenzt, umschlossen von streifig angeordneten Bindegewebszügen und an ihren Enden schon weiter von der Epidermis getrennt. Im übrigen ist sie noch ununterbrochen und liegen die Mitosen hier mehr in der Mitte. Bei einem 7 cm langen Embryo ist die Vorknorpelleiste an der Ohrspitze stellenweise verdünnt, an tieferen Stellen ist sie schon von Bindegewebszügen durchbrochen, durch die sich nur noch eine feine Reihe von Knorpelzellen hinzieht; sie ist jetzt überall, auch an ihren beiden

Enden, scharf durch eine streifige Bindegewebsschicht umgrenzt. Der Knorpel eines $1^1/_2$ Tage alten Kaninchenohrs zeigt im wesentlichen dieselben Verhältnisse. Die Dicke der Knorpelleiste ist ebensowenig wie die Grösse der Zellen gegen frühere Stadien vermehrt, wohl aber die Zahl der Zellen. Die einzelnen Knorpelinseln,[1]) welche die Leiste zusammensetzen, sind allseitig von der lamellären Schicht des Perichondriums umschlossen, welche nur spärliche, abgeplattete Zellen enthält; sie geht ganz allmählich in den Knorpel selbst über. Letzterer besteht im Inneren noch aus dicht aneinander liegenden Zellen, an denen zahlreiche Mitosen zu finden sind. Gegen das Perichondrium hin tritt die Intercellularsubstanz schon mehr hervor, die Zellen liegen weiter auseinander. Das Perichondrium wird, wie ein 11 Tage altes Kaninchenohr zeigt (s. Fig. II), immer ärmer an Zellen und hebt sich schärfer vom Knorpel ab; demgemäss werden auch die Mitosen in demselben spärlicher; der faserige Bau des Perichondriums tritt deutlich hervor. Am Knorpel fällt besonders die Zunahme der Intercellularsubstanz auf, die sich in der Folge stärker und stärker entwickelt. Die Zahl der auf einem Schnitt getroffenen Zellen wird in Folge dessen eine geringere, die Knorpelleiste dehnt sich der Länge, Breite und Tiefe nach aus. Hand in Hand damit geht eine Verminderung der Kerntheilungsfiguren, die jetzt auch mehr in der Nähe des Perichondriums liegen. Bis zum 25. Lebenstage sind dieselben stets nachweisbar, am 28. Lebenstage fanden wir nur noch ganz vereinzelte Mitosen und zwar ganz an der Grenze des Knorpels gegen das Perichondrium. In allen späteren Stadien konnten wir keine mehr nachweisen. Auffällig ist jetzt die starke Entwicklung der Intercellularsubstanz und die sich mehr und mehr weitenden Knorpelhöhlen. Vielfach beginnen bald die Zellen vom Rande aus zu verfetten.

Was nun das Mäuseohr anbetrifft, so ist besonders die Deutlichkeit und Zierlichkeit der von demselben gewonnenen Bilder hervorzuheben. Sonst findet man entsprechend den einzelnen Altersstufen dieselben Wachsthumsverhältnisse, wie wir sie vom Kaninchenohr beschrieben haben. Es fiel uns auf, dass an Schnitten durch die Spitze und Basis eines $^1/_2$ Tag alten Mäuseohrs die Kerntheilungsfiguren am dichtesten in dem Mitteltheil[2]) der Knorpelleiste lagen und dass hier die einfache Sternform bei weitem am häufigstem war, wohingegen sie an Schnitten durch die Mitte des Ohres deutlich an den beiden Enden der Knorpelleiste zusammengedrängt lagen und dort der in der Richtung der achromatischen Spindelachse getroffene Doppelstern überwog.

---

[1]) Unter „Knorpelinseln" verstehe ich die Querschnitte der durch elastische Fasern von einander getrennten Knorpelbalken im Netzknorpel.

[2]) Unter „Mitteltheil der Knorpelleiste" soll ihre sowohl von den beiden Enden, als auch von den Rändern aus zu nehmende Mitte verstanden sein.

Wollte man diesem Befunde Wichtigkeit beimessen, so könnte man daraus auf eine vom Mittelpunkt des Ohres ausgehende, strahlenförmig sich nach allen Seiten hin ausbreitende Wachsthumsrichtung schliessen.

Ziehen wir nun das Facit aus diesen Beobachtungen! Mit KASSOWITZ nehmen wir für den fertigen Netzknorpel vor allem ein interstitielles Wachsthum an und unterscheiden dabei das celluläre vom intercellulären, bei ersterem wieder das Wachsthum durch Zellvermehrung und das durch Zellvergrösserung. Das interstitielle, celluläre Wachsthum mit Zelltheilung überwiegt — wie auch beim embryonalen Vorknorpel — im ersten Lebensmonat bei weitem. Mag es nun hier abschliessen oder durch das intercelluläre Wachsthum erst secundär zum Stillstand gleichsam gezwungen werden, genug in der Folgezeit tritt letzteres an allen Präparaten so deutlich hervor, dass ihm neben dem appositionellen Wachsthum jetzt der Hauptantheil an der Vergrösserung des Knorpels zugeschrieben werden muss. Sobald die Kerntheilung beendet ist, tritt auch das Grössenwachsthum der einzelnen Zellen mehr in seine Rechte, welches vorher nicht unzweideutig erwiesen werden konnte. Das im Laufe des zweiten Lebensmonats besonders auffallende expansive Wachsthum möchten wir vor allem dem elastischen Fasergewebe zuschreiben, welches zwischen den einzelnen Knorpelbalken hindurchziehend diese bei seiner Ausdehnung auseinander spannt. Dass dieser Vorgang nun am Rande und nicht in den mittleren Theilen des Ohres hervortritt, könnte wohl an der eigenthümlichen Anordnung der elastischen Faserzüge im Ohrknorpel herrühren, die wie Aeste eines Baumes von einem Stamm in der Achse des Ohres ausgehend sich vielfach ineinander schlingen und am Rande zu einem ringsum geschlossenen Randstreifen vereinigen.

Was nun das appositionelle Wachsthum anbetrifft, so spielt es beim embryonalen Vorknorpel, soweit wir denselben untersucht haben, und beim Netzknorpel im ersten Lebensmonat eine untergeordnete Rolle. Dass es ganz fehle, möchten wir nicht behaupten, zumal da der allmähliche Uebergang der perichondralen Zellen in die des Knorpels selbst stets klar ist und sich auch im Perichondrium selbst doch vereinzelte Kerntheilungsfiguren finden. Vom Anfang des zweiten Lebensmonats an trägt es jedoch sicher zum Wachsthum des Knorpels in erster Linie bei. Dies beweist die immer noch langsam zunehmende Vergrösserung des Abstandes vom oberen Ring, resp. der oberen Lochmarke, zur Spitze und zu den Seitenrändern des Ohres, wobei die Entfernung zur unteren Marke später sich gleichbleibt, ferner auch die an den Lochmarkenrändern mikroskopisch nachweisbare, ohne Zelltheilung neu angesetzte, schmale Knorpelzone, auf deren Entwicklung gleich noch näher eingegangen werden soll. Im letzteren Falle handelt es sich allerdings unzweifelhaft um appositionelles Wachsthum, aber geradezu der Umstand, dass im ersten Lebensmonat die Lochmarken

unverändert bleiben und sich erst dann zu verengern beginnen, scheint uns dafür zu sprechen, dass erst nach dem Erlöschen des interstitiellen sich das appositionelle Wachsthum stärker entfaltet. Erklärt es sich so doch auch, warum bei jüngeren Thieren die Lochmarken stets länger offen bleiben, als bei älteren. Dass es sich hierbei natürlich in erster Linie um das mehr der Ohrmitte zu liegende, untere Loch handelt, ist wegen der schon oben erwähnten, am Spitzenloch auftretenden Expansionserscheinungen wohl erklärlich. Wir nehmen also ein richtiges appositionelles Wachsthum an und können den Standpunkt Kassowitz' nicht ganz theilen, der nur insofern appositionelles Wachsthum zugiebt, als sich die „schmale, nicht elastische, sondern hyaline Randpartie des Netzknorpels interstitiell wachsend vergrössere" und so zur Ausdehnung des letzteren beitrage.

Nur kurz möchten wir noch auf die Verhältnisse, welche beim Zuwachsen der Lochmarken in Betracht kommen, auf die oben erwähnte neugebildete Knorpelzone an ihrem Rande und somit auf die Regeneration des Knorpels überhaupt eingehen.

Schwalbe beobachtete, wie aus dem „Sitzungsbericht der Jenaischen Zeitschrift" von 1878 hervorgeht, constant eine Verengerung und schliesslich vollkommenen Verschluss der kreisrunden Lochmarken. Die mikroskopische Untersuchung zeigte keine Veränderung an dem durch das Locheisen glatt abgeschnittenen Knorpel. An Dickenschnitten sah er, (vgl. Fig. Va u. b) dass sich ein heller Streifen jungen Knorpels an die Schnittfläche des Knorpels anschloss, scharf vom alten Knorpel abgegrenzt und durch keine Zelltheilungsformen mit ihm verbunden. „Das Perichondrium des alten Knorpels setzt sich continuirlich auf diesen Zapfen jungen Knorpelgewebes fort und grenzt dasselbe auch gegen den ehemaligen jetzt überhäuteten Wundrand ab. Ueberdies ist diese Fortsetzung des Perichondriums mit dem neuen Knorpelgewebe continuirlich; seine zelligen Elemente gehen ganz allmählich unter Umwandlung ihrer Form in Knorpelzellen, seine Grundsubstanz unter Aufhellung in Knorpelgrundsubstanz über." Somit ist der neue Knorpel aus dem Perichondrium gebildet.

Wir haben diese Angaben vollständig bestätigt gefunden. Ein Schnitt (s. Fig. IV) durch den Rand einer 5 Tage vorher bei einem damals 19 Tage alten Kaninchen angebrachten Lochmarke zeigt uns den scharfen Schnittrand im Epithel und Bindegewebe. Dazwischen ragt die Knorpelleiste vor, deren äusserste Zellen sich in degenerativer Veränderung befinden. Besonders das Bindegewebe und das Perichondrium sind stark infiltrirt und erstrecken sich flammenförmig in die neugebildete, fast homogene Grundsubstanz hinein, an deren Rande sich schon eine neue, stark pigmentirte Epithelschicht zu bilden beginnt. In den Gefässen finden sich theils normale Blutkörperchen, theils unregelmässig geformte Pigmentkörner. Die Epidermis ist nach

dem scharf abschneidenden Rande zu stark pigmentirt. Vielleicht handelt es sich hier um einen oberflächlichen Pigmentzerfall der Epidermis und stehen die Pigmentkörner in den Kapillaren damit in Zusammenhang.

Wie man nun an verschiedenen, späteren Stadien entnommenen Präparaten sehen kann, legt sich allmählich das Epithel von beiden Seiten her aneinander, dabei wulsten sich die Enden der beiden Epidermisstreifen nach innen um und bilden so an ihrer Vereinigungsstelle einen Epithelkeil in das Bindegewebe hinein. Einmal beobachteten wir an Stelle dieses Keils einen rings um die Lochmarke verlaufenden geschlossenen Kanal, dessen Entstehung wir uns nicht anders als durch abnorme Aneinanderlagerung der Epidermisenden erklären konnten. Die betreffende Lochmarke war noch im 4. Monat weiter, als sie ursprünglich angelegt wurde, und vermuthlich hing dies doch mit der erwähnten Abnormität zusammen. Auch das Bindegewebe vereinigt sich über der Knorpellamelle, und endlich legt sich das Perichondrium kappenförmig hinüber. Zwischen letzterem und dem Knorpelrande bildet sich jetzt eine Schicht neuen Knorpelgewebes; diese veranschaulichen in einem etwas fortgeschritteneren Stadium die Figuren Va und Vb, zwei Zeichnungen, welche Herr Professor SCHWALBE uns in liebenswürdigster Weise zur Verfügung gestellt hat. Man erkennt daran deutlich, wie sich das Perichondrium in einzelnen Schichten über den alten Knorpel hinübergelegt hat; der neugebildete Knorpel ist durch Kleinheit seiner Zellen vom alten, durch reichlichere Intercellularsubstanz und eine mehr rundliche Form der Zellen vom Perichondrium deutlich zu unterscheiden. Weil nun an dem Schnittrand der Knorpelleiste nie Mitosen zu finden waren, so muss, da ja auch die oberflächlichsten Knorpelzellen degeneriren, dem Perichondrium die Bildung des neuen Knorpels zugeschrieben werden. Dass es sich hier aber um Apposition handelt, geht aus dem Fehlen von Mitosen auch im Perichondrium selbst unzweideutig hervor.

Die Lochmarke schliesst sich endlich. Ist es nun die Knorpelneubildung, welche dieses bewirkt? oder was ist es sonst? Hierauf giebt uns ein Schnitt, welcher von einer seit 2 Monaten verheilten Lochmarke stammt, die Antwort (s. Fig. VI). Der frühere Defect lässt sich hier deutlich nur an dem Knorpelstreifen erkennen; der alte Knorpel hört beiderseits mit einer scharfen Grenze auf, das Perichondrium jedoch geht continuirlich von einer Seite des Defects zur anderen hinüber, ohne ausser stellenweise geringer Verdickung irgendwelche Besonderheit zu zeigen. Zwischen den beiden Lamellen des Perichondriums und den Knorpelenden liegt nun eine neugebildete Schicht, die stellenweise deutliche Faserung, im übrigen homogene Grundsubstanz mit eingelagerten kleinen Zellen aufweist. Das ist der vom Perichondrium neu gebildete Knorpel. In früheren Stadien sieht

man, wie ersteres von den Schnitträndern aus in Form eines spitzen Keils nach dem Mittelpunkt der Lochmarke hinwächst; indem die beiden Keile nun Bindegewebe und Epithel auseinander drängen, treffen sie sich mit ihren Spitzen. Das neugebildete Gewebe wächst in die Keile hinein und weitet dieselben, jetzt selbst als Keil wirkend, aus. Ob das neugebildete Knorpelgewebe je dem alten gleichartig wird, können wir nicht entscheiden. — Das Epithel ist über dem Defect ohne Unterbrechung zusammengeheilt; in der neugebildeten Zone sind Drüsenanlagen, fertige Drüsen und selbst Haarbildungen bemerkbar. Ausser stärkerer Pigmentirung an den Grenzen des durchschnittenen Randes und theilweise in der neugebildeten Zone findet sich nichts Abnormes. Somit wäre die erste Vernarbung der Lochmarke der Epithelwucherung zu Gute zu schreiben; die festere Fügung der Narbe jedoch dem Perichondrium und der von diesem neugebildeten Knorpelschicht.

Wir sind also, um es am Schlusse noch einmal zusammenzufassen, bei unseren Untersuchungen zu folgenden Ergebnissen gekommen:

1. Der Netzknorpel wächst im Laufe der ersten Lebensmonate durch interstitielles, celluläres Wachsthum mit Zelltheilung, wie die Kerntheilungsfiguren beweisen.

2. Im zweiten Lebensmonat wächst der Netzknorpel durch Vergrösserung seiner Zellen und der Intercellularsubstanz, durch Expansion seiner elastischen Fasernetze und durch appositionelles Wachsthum.

3. In späteren Stadien ist es nur das appositionelle Wachsthum, welches zur Ausbildung des Netzknorpels beiträgt.

4. Die Regeneration des Knorpels kommt durch appositionelles Wachsthum vom Perichondrium aus zu Stande.

Zum Schluss erfülle ich die angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor SCHWALBE, für die Anregung zur vorliegenden Arbeit und für die überaus freundliche Förderung derselben mit Rath und That den allerherzlichsten Dank auszusprechen.

Litteraturverzeichniss.

STÖHR, Lehrbuch der Histologie und der mikroskopischen Anatomie des Menschen. 1888.

KÖLLIKER, Handbuch der Gewebelehre des Menschen. 1889.

OLLIER, Traité expérimental et clinique de la régénération des os et de la production artificielle du tissu osseux. 1867.

Schwalbe, Sitzungsbericht der Jenaischen Gesellschaft für Naturwissenschaft. 1878. 28. Juni.

Kassowitz, Normale Ossification. Wiener medicinische Jahrbücher. 1880 u. 1881.

Gradenigo, Ueber die embryonale Anlage des Mittelohrs. Ebenda. 1887.

Bruch, Untersuchung über die Entwicklung der Gewebe bei den warmblütigen Thieren.

Bernays, Morphologisches Jahrbuch, Band IV Seite 403.

Schulin, Archiv für Anatomie und Physiologie. Anatomische Abtheilung. 1879.

Dekhuyzen, Het hyaline Kraakbeen zijn beteekenis en zijn groei. 1889.

Solger, Ueber Knorpelwachsthum, Fortschritte der Medicin Nr. 22.

Erklärung der Abbildungen.

Tafel VIII.

Figur I. Querschnitt durch den Ohrrand eines 4 cm langen Kaninchenembryos. Die Epidermis umschliesst ein zellreiches Gewebe, in dem zahlreiche Mitosen sich befinden. Eine Trennung von Bindegewebe und Vorknorpel ist noch nicht vorhanden. a) Cylinderzellen des Stratum Malpighii, b) polyedrische Zellen desselben, c) Stratum granulosum mit Resten des Stratum corneum bei c_1.

Figur II. Querschnitt durch die Knorpelleiste im Ohr eines 18 Tage alten Kaninchens. Mitosen im Knorpel selbst. p. Perichondrium, k. Knorpel.

Figur III. Querschnitt durch den Ohrrand einer 5 Tage alten Maus. Die Knorpelleiste (k) ist deutlich vom Bindegewebe getrennt, geht jedoch an ihren Enden allmählich in die Zellen des Stratum Malpighii über. Ein Perichondrium ist nicht klar unterscheidbar. Die Mitosen liegen besonders am Rande der Knorpelleiste. e. Epidermis, v. zerfallene Blutkörperchen, h. Anlagen von Haaren.

Figur IV. Schnitt durch den Rand einer vor 5 Tagen bei einem damals 19 Tage alten Kaninchen angebrachten Lochmarke. k. Knorpelleiste, nach dem Lochmarkenrande bei k_1 degenerativ verändert. An der Epidermis e bei r der scharfe Schnittrand sichtbar, n. neugebildetes Gewebe mit stark pigmentirtem, neu sich bildendem Epithel (e), p. Perichondrium, g. dilatirte Blutgefässe mit Blutkörperchen und Pigment.

Figur Va u. b, zwei mir von Herrn Prof. SCHWALBE freundlichst zur Verfügung gestellte Zeichnungen, Knorpelneubildung am Lochmarkenrande darstellend. a. alter Knorpel, p. Perichondrium, k. neu gebildeter Knorpel. Va stärkere Vergrösserung, Vb schwache Vergrösserung, ek Epithelkeil an der Stelle, wo die beiden Epidermislagen sich zusammengelegt haben.

Figur VI. Verheilte Lochmarke k, k, p, e, wie oben. Zwischen dem alten Knorpel sieht man den von Perichondrium bedeckten, neuen Knorpel. In der Epidermis Haare (h) und Drüsen; bei x stärkere Pigmentirungen.

Tafel IX.

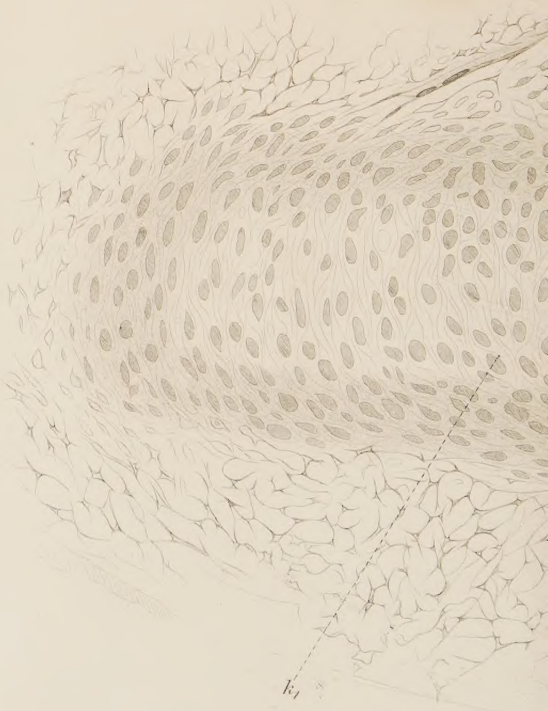
Wachsthumscurven des Kaninchenohrs, gezeichnet nach den mitgetheilten Zahlenreihen.

G. Pätz'sche Buchdruckerei (Lippert & Co.), Naumburg a/S.

Fig. 3.

Fig. 2.

Fig. 5a



E. Kretz del.

Fig. 4.

Fig. 6.

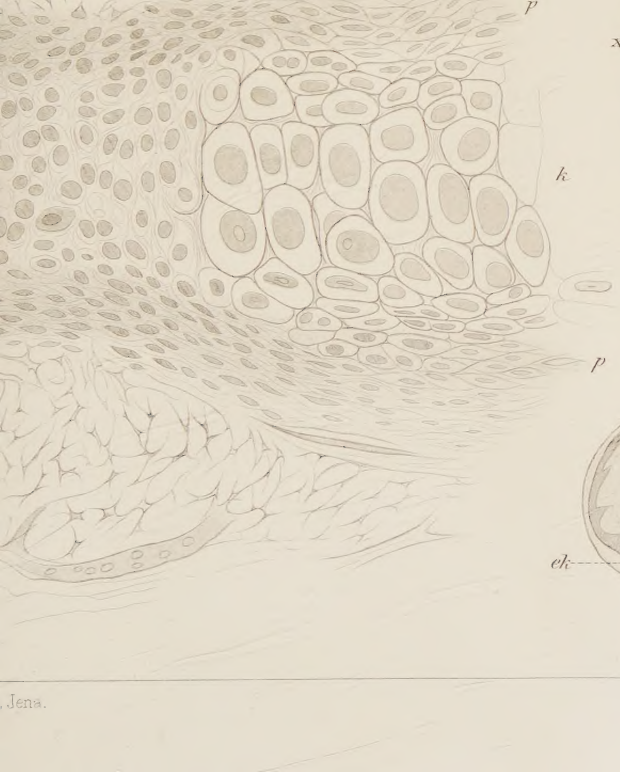


Fig. 5b

Lith. Anst. v. A. Giltsch, Jena.